

# Über das Elektronenmikroskop und seine Anwendung in der Virusforschung

Von Ehrhart Nitzschke.

Unter den verschiedenartigen Krankheitserregern, die bei Mensch, Tier und Pflanze vorkommen, nehmen die Viren in mehrfacher Hinsicht eine Sonderstellung ein. Im Gegensatz zu den Bakterien sind sie auf künstlichen Nährboden nicht züchtbar. Ihre Vermehrung kann vielmehr nur in den lebenden Zellen eines Wirtes erfolgen, dessen Fermentsysteme sie in Ermangelung ausreichender eigener Enzyme in Anspruch nehmen. Fast alle Virusarten sind außerdem erheblich kleiner als Bakterien, so daß sie bakteriendichte Porzellanfilter in der Regel mühelos passieren. Aus dem gleichen Grunde können im Lichtmikroskop auch nur einige der größten Virusarten dargestellt werden; ihre Elementarteilchen sind nach entsprechender Anfärbung gerade noch wahrnehmbar. Die meisten Viren dagegen sind lichtmikroskopisch nicht sichtbar zu machen.

Trotz der Übereinstimmung in diesen charakteristischen Merkmalen dürfen die Viren keineswegs als wesensgleich angesehen werden. Selbst innerhalb der einzelnen Wirtsklassen ist ihre

---

Nach mehrjährigen Bemühungen, ein Elektronenmikroskop für Gießen zu sichern, hat das Carl-Zeiß-Werk in Oberkochen ein Elektronenmikroskop dem Veterinärhygienischen und Tierseuchen-Institut unserer Hochschule als unentgeltliche Leihgabe überlassen. Die Deutsche Forschungsgemeinschaft hat dann die erforderlichen Hilfsgeräte, ein Ultramikrotom und eine Aufdampfanlage zur Verfügung gestellt, während das Land Hessen eine technische Assistentin und die Betriebskosten bewilligt hat.

Der vorstehende Aufsatz wird erkennen lassen, wie notwendig diese Einrichtungen für die Arbeit gerade unserer Hochschule sind.

(Der Herausgeber)

Mannigfaltigkeit überraschend. So gehört das an der Grenze der lichtmikroskopischen Sichtbarkeit befindliche Pockenvirus mit einem Durchmesser von etwa 250  $\mu$  ebenso zu den tierpathogenen Virusarten wie der kleinste Vertreter dieser Gruppe, das etwa 12  $\mu$  große Virus der Maul- und Klauenseuche. Noch imponierender wirkt der Unterschied, wenn man den soeben angeführten Pockenerreger, der biologisch und chemisch recht kompliziert aufgebaut ist, einem derjenigen Pflanzenviren gegenüberstellt, die ohne Verlust ihrer Ansteckungsfähigkeit kristallisiert werden können und chemisch Nukleoproteide darstellen.

Infolge der erwähnten Eigentümlichkeiten ist man bei der Erforschung der Viruskrankheiten im allgemeinen auf schwierige und kostspielige Arbeitsmethoden angewiesen. Wegen der Eigenart der Virusvermehrung konnten virologische Studien lange Zeit nur im Tierversuch oder an der lebenden Pflanze erfolgen. Erst in neuerer Zeit glückte es, die Beschränkungen, die sich daraus namentlich für das Arbeiten mit menschen- und tierpathogenen Viren ergaben, durch die Verwendung des bebrüteten Hühnereies und der Gewebekultur zu umgehen, in denen zahlreiche Virusarten überraschenderweise viel besser zur Vermehrung gebracht und studiert werden können als beim Versuchstier oder beim natürlichen Wirt.

Außerordentlich hemmend für die Virusforschung wirkte sich die geringe Größe ihrer Objekte aus. Ihretwegen konnte man sich bei der Untersuchung der verschiedenen Erreger und zur Aufklärung ihrer speziellen Eigenschaften ausschließlich indirekter Methoden bedienen, wobei mit Hilfe der Ultrafiltration und Ultrazentrifugation allerdings wertvolle Aufschlüsse auch über ihre Form und Größe erlangt werden konnten. Nichtsdestoweniger war die Charakterisierung der einzelnen Virusarten unvollständig, solange ihrer direkten Betrachtung durch die unzureichende Auflösung des Lichtmikroskopes eine Schranke gesetzt war.

Die Viren blieben, obwohl eine große Zahl von ihnen längst identifiziert war, mithin verborgene, fast geheimnisvolle Agentien, bis durch die geniale Idee deutscher Physiker ein Gerät geschaffen wurde, das die auflösende Kraft des Lichtmikroskopes um das Hundertfache übertraf. Dem Auge des Forschers war mit diesem

Übermikroskop nun ein neues tiefes Feld des Mikrokosmos erschlossen, in dem auch die kleinsten der Viren ihre Gestalt und Struktur offenbarten.

Die erstaunliche Leistungsfähigkeit des Übermikroskopes erklärt sich aus der Tatsache, daß zur Abbildung nicht wie beim Lichtmikroskop das sichtbare Licht, sondern Elektronenstrahlen verwendet werden. Letztere besitzen, wenn die Elektronen in einem Spannungsfeld von 50 000 bis 100 000 Volt beschleunigt werden, eine Wellenlänge, die etwa 100 000mal kleiner ist als die des sichtbaren Lichtes. Nach dem von Abbe erkannten Gesetz begrenzt die Wellenlänge aber die maximale Leistung, also das Auflösungsvermögen eines optischen Systems, d. h. sie bestimmt den kleinsten Abstand, in dem zwei Objektpunkte gerade noch getrennt wahrgenommen werden können. Die Auflösung des Elektronenmikroskopes wäre mithin theoretisch so hoch, daß selbst Atome sichtbar gemacht werden könnten. Praktisch ist sie durch die erreichbare Güte der Linsen jedoch geringer, so daß ihre Grenze bei etwa  $2 \mu\mu$  liegt. In Abhängigkeit von diesem Wert können die zu untersuchenden Objekte heute ohne Überschreitung des Förderlichen elektronenmikroskopisch linear auf das 100 000-fache vergrößert werden. Bei Abbildungen mit höchster Auflösung kann eine 2- bis 3fache lichtoptische oder photomechanische Nachvergrößerung sogar noch weitere Einzelheiten sichtbar machen.

Die Hauptschwierigkeit auf dem Weg zur Übermikroskopie ergab sich aus dem Fehlen geeigneter Linsen, mit denen kurzwellige Strahlen gebündelt und so zur Abbildung herangezogen werden konnten. Die Lösung dieses Problems verdanken wir dem in Jena tätigen Physiker Busch, der im Jahre 1926 erkannte, daß Elektronenstrahlen im rotationssymmetrischen elektrostatischen oder elektromagnetischen Feld in ähnlicher Weise beeinflußt werden, wie die Strahlen des sichtbaren Lichtes durch Glaslinsen. Wenige Jahre später wurde diese Entdeckung im Experiment bestätigt und bildete nun den Ausgangspunkt für die Entwicklung des Elektronenmikroskopes. Bei der Ausführung des Vorhabens wurden entsprechend den beiden physikalischen Möglichkeiten unterschiedliche Wege beschritten. H. Mahl konstruierte bei der Allgemeinen Elektrizitätsgesellschaft ein später vom Zeißwerk über-

nommenes Gerät mit elektrostatischen Linsen, während E. R u s k a und v. B o r r i e s im Laboratorium von Siemens & Halske die Abbildung über magnetische Felder erreichten. Die Entwicklungsarbeit gelangte im Jahre 1938 bzw. 1939 zu einem ersten Abschluß. Trotz zahlreicher technischer Verbesserungen in der Folgezeit blieben die beiden Geräte in ihrem Grundtyp bis heute erhalten und ermöglichen auf allen Gebieten der Wissenschaft, sei es in der Physik oder der Technik, in der Medizin oder der Biologie einen Einblick bis in den Bereich der Makromoleküle.

Hinsichtlich der zur Abbildung benutzten Strahlung wie auch in der Art der verwendeten Linsen weicht das Elektronenmikroskop also wesentlich vom Lichtmikroskop ab. Im grundsätzlichen Aufbau und im Strahlengang besteht hingegen eine weitgehende Übereinstimmung. Von der als Strahlquelle dienenden Glühkathode ausgehend durchdringen die im Spannungsfeld der Anode beschleunigten Elektronen das Objekt. Durch die Objektivlinse werden die Elektronenstrahlen dann zu einem reellen Bild vereinigt, das zur Erlangung der gewünschten Vergrößerung durch eine oder mehrere weitere Linsen auf einen Leuchtschirm oder eine photographische Platte projiziert wird. Da Elektronenstrahlen von der Luft absorbiert werden, muß die Mikroskopsäule ständig auf fast  $1/_{100000}$  des normalen atmosphärischen Druckes ausgepumpt werden. Für das Einbringen und den Wechsel der Untersuchungsobjekte wie auch für die Entnahme der belichteten photographischen Platten sind infolgedessen mehrstufige Schleusen erforderlich, die zusammen mit der Anlage zur Erzeugung der erforderlichen Spannung zwischen 40000 und 100000 Volt, mit den Vakuumpumpen und einer Anzahl anderer Vorrichtungen das Elektronenmikroskop zu einem recht aufwendigen Gerät machen.

Das elektronenoptische Bild kommt im Gegensatz zur lichtmikroskopischen Darstellung, bei der Unterschiede in Helligkeit und Farbe vorwiegend durch verschiedene Absorption in den einzelnen Objektteilen entstehen, in erster Linie durch Streuung der Elektronen zustande, wobei letztere aus der Richtung des Strahles austreten und von einer Kontrastblende aufgefangen werden. Der Bildkontrast ergibt sich demnach aus dem unter-

schiedlichen Streuvermögen der Objektpunkte, das seinerseits von der atomaren Dichte und der Dicke der Präparatstellen abhängt. Anschauliche elektronenmikroskopische Abbildungen sind daher nur von Präparaten mit ausreichenden Dichteunterschieden zu erzielen. Materialien biologischer Herkunft, die bekanntlich vorwiegend aus den Elementen Kohlenstoff, Sauerstoff, Stickstoff und Wasserstoff mit relativ geringen Atomgewichten bestehen, liefern wenig ausdrucksvolle Bilder, sofern nicht die an sich leichten Atome in manchen Regionen sehr stark konzentriert sind oder durch das Vorkommen von Nukleinsäuren, Kalk o. ä. schwerere Elemente wie Phosphor oder Kalzium eingelagert sind. Organische Objekte, die dicker sind als  $0,2 \mu$  oder solche, die schwere Atome in größerer Menge enthalten, sind für Elektronen nicht durchdringbar. Sie liefern strukturlose Schattenbilder.

Aus den geschilderten Bedingungen für die Bildentstehung ergibt sich von selbst, daß der Anwendung der Elektronenmikroskopie erhebliche Beschränkungen auferlegt sind. Nur wenige Objekte liegen von Natur aus in einer solchen Form vor, d. h. sind so fein, so dünn und von störenden Begleitstoffen und Verunreinigungen soweit frei, daß sie ohne besondere Vorbereitung im Elektronenmikroskop mit Erfolg untersucht werden könnten. Nach Auffassung vieler Wissenschaftler stellte während des ersten Jahrzehnts der elektronenmikroskopischen Forschung die Methodik und Technik der Präparation das schwierigste und brennendste Problem überhaupt dar. Und auch heute sind trotz erstaunlicher Fortschritte auf diesem Gebiet noch keineswegs alle Fragen gelöst. Für die Virusforschung waren die diesbezüglichen Voraussetzungen zum Teil relativ günstig, da die Mehrzahl der Objekte in den für das Elektronenmikroskop optimalen Größenbereich von 10 bis  $125 \mu\mu$  gehört und ihre Isolierung z. B. aus der Allantoisflüssigkeit bebrüteter Hühnereier, aus Preßsäften und Gewebesuspensionen mit Hilfe physikalischer oder chemischer Methoden in vielen Fällen gelang. Immerhin waren auch hier nicht selten wochen- und monatelange Vorarbeiten zu leisten, bis durch eine oft nur Minuten dauernde Prüfung im Elektronenstrahl entschieden werden konnte, ob die Präparation zum Erfolg geführt hatte. Bei einer beträchtlichen Zahl von Erregern war es

trotz Verwendung modernster Hilfsmittel, wie der Ultrazentrifuge oder der Elektrophoreseapparatur bis heute allerdings nicht möglich, die Erreger von dem Begleitmaterial des Wirtsgewebes abzutrennen und sie so der elektronenmikroskopischen Betrachtung zugänglich zu machen.

Zusätzlich erschwert wurde die Entwicklung präparativer Methoden durch die ständige Sorge, daß die Objekte bei den notwendigen Fragmentierungs- und Reinigungsprozessen Veränderungen erleiden könnten. Namentlich bei der Anwendung sehr wirkungsvoller, dafür aber vielfach wenig schonender Verfahren, wie z. B. der chemischen Fällung oder der Extraktion mit organischen Lösungsmitteln, mußten den Aussagewert der Präparate mindernde Schädigungen befürchtet werden. Es war daher erforderlich, unter Berücksichtigung der Empfindlichkeit der Erreger und der Beschaffenheit des Wirtsmaterials beinahe für jede der Virusarten eine spezielle Aufarbeitungstechnik auszuprobieren.

Aber selbst wenn es gelingt, von Fremdmaterial freie Lösungen nicht veränderter Viruspartikel zu gewinnen, ist die Gefahr der Artefaktbildung nicht unterbunden. So werden kugelförmige Viren, wenn man das für die Untersuchung benötigte winzige Tröpfchen der betreffenden Lösung auf die mit einer hauchdünnen Folie überzogenen Objektträgernetze aufträgt, beim Antrocknen infolge der Oberflächenspannung und der Schwere der Partikel zu mehr oder weniger flachen Scheiben abgeplattet. Im Durchstrahlungsbild wird auf diese Weise ein größerer Durchmesser vorgetäuscht. Geradezu irreführend erwies sich ein Präparationseffekt, der beim Erreger der atypischen Geflügelpest beobachtet wurde. Überträgt man das Virus aus salzfreiem Milieu auf die Folie, so erscheint es sphärisch, während es sich aus salzhaltigen Lösungen gestreckt oder hantelförmig darstellt.

Zur Vermeidung derartiger Kunstprodukte ist es zweckmäßig, die Objekte vor oder beim Auftragen auf die Folie in einen unveränderlichen Zustand zu überführen, d. h. zu fixieren. Eine Möglichkeit hierfür besteht durch die Gefriertrocknung. Viel häufiger allerdings wird heute die Fixierung auf chemischem Wege vorgenommen, wobei die früher üblichen Mittel, wie z. B. das Formalin, inzwischen durch die Osmiumsäure weitgehend ver-

drängt worden sind. Neben seiner guten konservierenden Wirkung bietet die Osmiumsäure einen weiteren bemerkenswerten Vorteil. Durch die Einführung der schweren Osmium-Atome in die Virusteilchen wird deren Kontrast beträchtlich gesteigert. Die Osmiumsäure-Fixierung stellt also zugleich eine Art Färbemethode für die Elektronenmikroskopie dar, über deren hauptsächliche Anwendung jedoch erst später berichtet werden soll. Nur soviel sei vorausgenommen, daß im Vergleich zu den in der Bakteriologie und in der Histologie geübten Verfahren, mit denen bestimmte Erreger oder Gewebestrukturen tatsächlich selektiv gekennzeichnet werden können, die diesbezüglichen Ansätze in der Elektronenmikroskopie noch bescheiden sind. Bei den Virusarten ist eine scheinbar selektive „Anfärbung“ bisher nur in einem Falle erreicht worden. Es handelt sich um das etwa 50  $\mu$  große amerikanische Pferdeenzephalitis-Virus, das unter der Einwirkung von Calciumchlorid auffallend an Kontrast gewinnt.

Der gebräuchlichste, schon viel früher beschrittene Weg zur Kontrasterhöhung besteht in der Metallbedampfung. Sie erfolgt in einem Hochvakuum-Gerät, wie es in der Industrie, hier jedoch in beträchtlich größerer Ausführung, für die Vergütung von Glaslinsen oder zur Verspiegelung benutzt wird. Die Metaldämpfe treffen bei Ausführung dieser sogenannten Beschattung unter einem Winkel von 15—30° auf das mit Viruspartikeln belegte Objektträgernetz auf, so daß die Oberfläche mit etwa  $\frac{1}{500000}$  mm dicken Metallfilm überzogen wird, der das Streuvermögen für Elektronen stark erhöht. Lediglich hinter den aufgetragenen Teilchen bleibt je nach ihrer Größe und in Abhängigkeit vom Aufdampfwinkel eine bestimmte Fläche ausgespart. Durch diese Schattenbildung erscheint das Präparat bei der Betrachtung im Elektronenmikroskop wie von der Seite beleuchtet und vermittelt einen ausgesprochen räumlichen Eindruck. Außer ihren Umrissen lassen die einzelnen Partikel recht anschaulich auch ihre Gestalt und ihre relative Höhe erkennen, so daß bei fixierten Objekten eine exakte Größenbestimmung möglich ist. Oberflächenstrukturen können durch die Bedampfung ebenfalls sichtbar gemacht werden. Kleinste organische Partikel mit einer Dicke oder einem Durchmesser von 10  $\mu$  abwärts wären ohne eine solche künst-

liche Kontraststeigerung praktisch gar nicht wahrnehmbar. Als Aufdampfmetall bei biologischen Präparaten dienen vor allem Platin, Palladium und Chrom.

Die soeben skizzierten Besonderheiten der Abbildung und der Präparation machen es ratsam, bei der Beurteilung elektronenmikroskopischer Untersuchungsergebnisse stets an die Möglichkeit von Artefakten zu denken. Zu einer kritischen Bewertung der Bilder zwingen nicht zuletzt aber die tiefgreifenden Veränderungen, denen die Objekte im Mikroskop selbst unterworfen sind. Nach der Einschleusung in das Mikroskop werden die Präparate im Hochvakuum binnen kurzer Zeit entwässert. Ferner tritt bei organischem Material, namentlich durch die ionisierende Wirkung der Elektronenstrahlen, ein rascher Abbau ein, wobei es zur Verflüchtigung bestimmter Atomgruppen, nämlich von Wasserstoff, Sauerstoff, Stickstoff u. a. und damit zu einer Verringerung des Streuvermögens kommt. Wenige Minuten später haben sich dann bereits Kohlehüllen ausgebildet, bis am Ende das gesamte Präparat in ein Kohlegerüst umgewandelt ist. Die Verkohlung verläuft allerdings formbeständig, so daß die Dichteunterschiede im Material und somit auch das elektronenoptische Bild grundsätzlich erhalten bleiben.

Im Gegensatz zum Lichtmikroskop, das die erfaßbaren Mikroorganismen auch ohne Beeinträchtigung ihrer Lebensvorgänge zu beobachten gestattet, vermag das Elektronenmikroskop unter normalen Bedingungen also nur leblose, in ihrem Aufbau weitgehend veränderte Objekte abzubilden. Zur Identifizierung der dargestellten Objekte sowie zum Ausschluß von Fehldeutungen sollten die elektronenoptischen Befunde stets durch eine biologische, serologische oder chemische Prüfung des Untersuchungsmaterials gesichert werden. Eine schlüssige Aussage an Hand der Größe, Gestalt und Häufigkeit von Teilchen dürfte dabei oftmals nur unter Heranziehung statistischer Methoden möglich sein.

Von den speziellen Ergebnissen der Elektronenmikroskopie ein wirklichkeitsgetreues Bild zu entwerfen, muß ein Versuch bleiben, wenn man sich dabei nicht der Fülle der brillanten Aufnahmen bedienen kann, die von zahlreichen Virusarten veröffentlicht worden sind. Die folgenden Ausführungen sollen daher vor



allem die wichtigsten Probleme aufzeigen, an deren Bearbeitung die elektronenoptische Untersuchung maßgeblich beteiligt war und ist. Einem Autor aus dem Gebiet der Veterinärmedizin sei es dabei nicht verübelt, wenn er für diese Betrachtung die tier- und menschenpathogenen Viren auswählt.

Trotz der geschilderten Beschränkungen durch die Schwierigkeiten der Präparation kann kein Zweifel bestehen, daß das Elektronenmikroskop zum Verständnis der Virusmorphologie mehr beigetragen hat als jedes andere technische Hilfsmittel. Im submikroskopischen Raume zwischen den kleinsten autonomen Einzellern bis an die Grenze des Unbelebten machte es die Viren als biologische Einheiten von vielfältiger Gestalt, Größe und Innenstruktur sichtbar. Die Bedeutung der fast unübersehbaren Einzelbefunde aber liegt darin, daß sie sich gleichsam mosaikartig zu einem Gesamtbild vereinigen lassen. Nachdem man zur Erlangung eines Überblickes früher die Viren recht unzulänglich nach ihrer Affinität zu den Gewebearten zu ordnen versuchte und hierbei z. B. die beiden eingangs erwähnten höchst unterschiedlichen Erreger der Pocken und der Maul- und Klauenseuche wegen des Hervortretens von Hautveränderungen in eine Gruppe der dermatropen Viren stellen mußte, ist jetzt ein Gerüst für ein biologisches System der Virusarten geschaffen. Wie in der Bakteriologie oder in der Zoologie gründet es sich auf trennende Merkmale in Gestalt, Aufbau, Leistung und Vermehrungsart und erleichtert die Durchdringung des Gesamtgebietes und die Erfassung des Wesentlichen.

An der Spitze dieser Systematik, wie sie in ähnlicher Weise auch für die Viren der Insekten und der Pflanzen aufgestellt wurde, stehen die größten tier- und menschenpathogenen Viren von bläschenförmigem Aussehen, zu denen die Erreger der Papageienkrankheit, des Lymphogranuloma venereum, des Schafabortes u. a. gehören. Die wasserreichen, komplizierten Gebilde, deren Durchmesser etwa bei 250—400  $\mu$  liegt, haben eine deutliche innere Verdichtung und sind wahrscheinlich von einer feinen Hülle umgeben. Auffallend ist die Vielgestaltigkeit der auftretenden Entwicklungsformen.

Die zweite Gruppe bilden die schon mehrfach erwähnten

Pockenerreger mit ausgesprochen quaderförmiger Gestalt. Bei ihnen konnten, teilweise durch enzymatische Abbaumethoden, Innenstrukturen aufgedeckt werden, die in mancher Hinsicht an eine zelluläre Organisation erinnern.

Wesentlich kleiner sind die Virusarten mit unregelmäßiger Gestalt. Neben dem obengenannten Erreger der atypischen Geflügelpest gehört das Mumpsvirus hierher. Die sphärischen Formen sind etwa 125  $\mu$  groß.

Die Vertreter der mittelgroßen, kugelförmigen Viren, die Erreger der Influenza und der in Deutschland getilgten klassischen Geflügelpest stellen die am eingehendsten bearbeiteten Viren dar, da sie im embryonierten Hühnerei leicht züchtbar sind und vortreffliche Modelleigenschaften besitzen. Ihr Durchmesser liegt zwischen 70 und 100  $\mu$ . Eine elektronenoptisch darstellbare Innenstruktur weisen diese Viren nicht mehr auf und stimmen insofern mit den kleinen kugelförmigen Virusarten überein, deren Größe weniger als 50  $\mu$  beträgt. Zu ihnen zählen die Erreger der Kinderlähme sowie anderer Erkrankungen des Nervensystems bei Mensch und Tier. Die letztgenannten Viren zeigen zum Teil eine beachtliche Resistenz gegen organische Lösungsmittel und ordnen sich bei ihrer Reindarstellung bereits gitterförmig an.

Das kleinste tierpathogene Virus, der Erreger der Maul- und Klauenseuche, konnte bisher noch nicht gereinigt und abgebildet werden.

Die Abkehr von der früheren symptomatologischen Systematik konnte inzwischen vielfach auch durch eine Übereinstimmung serologischer und biochemischer Merkmale in den einzelnen Gruppen begründet werden. Das neue System ist jedoch noch keineswegs vollständig.

Ein weiteres Problem, bei dem die Elektronenmikroskopie wertvolle Erkenntnisse geliefert hat, ist die Frage der Virusvermehrung. Der Mechanismus dieses Vorganges ist aus zweierlei Gründen von überragendem Interesse. Mit der Aufklärung des Vermehrungsablaufes besteht einmal die Hoffnung, einen Ansatzpunkt zu finden, wo der für die Wirtszelle in der Regel vernichtende Prozeß der Virusproduktion gestört werden kann, wie das z. B. mit Hilfe der Sulfonamide bei Bakterien gelingt. Die Mög-

lichkeit einer chemotherapeutischen oder antibiotischen Beeinflussung gibt es bei den meisten Virusarten bisher bekanntlich nicht. Zum anderen sind die Viren, als die kleinsten, selbstvermehrungsfähigen Erreger, leicht faßbar und repräsentieren daher ein ideales Modell für das Studium der identischen Reproduktion der lebenden Substanz, die eines der interessantesten Probleme der Biologie überhaupt bildet. Von den experimentellen Fortschritten auf diesem Gebiet verdienen namentlich die Ergebnisse von Schäfer Erwähnung, der am Virus der klassischen Geflügelpest biologisch aktive und physikochemisch differente Untereinheiten nachweisen und elektronenoptisch abbilden konnte, die beim Eindringen des Elementarteilchens in die Wirtszelle und der anschließenden Vervielfältigung der Virussubstanz eine Schlüsselstellung einnehmen. Die Bedeutung der Nukleinsäure für die Virusvermehrung konnte Schramm in bewundernswerter Weise durch die elektronenmikroskopische Darstellung des Nukleinsäurefadens im Tabakmosaikvirus beweisen. Seine Befunde stimmen überein mit den Beobachtungen bei Vermehrungsstudien an den „Krankheitserregern“ der Bakterien, den Bakteriophagen.

Im Hinblick auf die Tatsache, daß die Virusvermehrung in der lebenden Zelle abläuft, bestand verständlicherweise schon lange der Wunsch, nicht nur isolierte Vermehrungsstufen des Virus, sondern auch die Vorgänge in der infizierten Wirtszelle selbst zu erforschen. Die technischen Gegebenheiten am Elektronenmikroskop machten die Ausführung dieses Vorhabens an der lebenden intakten Zelle jedoch weitgehend unmöglich. Ein Weg fand sich erst, als es im Jahre 1949 gelang, von tierischen Geweben Schnitte herzustellen, die nicht dicker als 0,1 bis 0,2  $\mu$ , für Elektronenstrahlen also noch durchlässig waren. Die Technik dieser Ultrahistologie ist mittlerweile erheblich vervollkommenet worden, so daß heute routinemäßig Dünnschnitte bis etwa  $\frac{1}{100000}$  mm Stärke zu erhalten sind. An einem Beispiel veranschaulicht bedeutet dies, daß man ein durchschnittlich dickes Bakterium bequem in 20 Scheiben und mehr zerlegen kann. Für die Herstellung der Schnitte müssen die etwa hirsekorngroßen Gewebstücke fixiert, entwässert und in Plexiglas eingebettet werden. In diesem Prozeß liegt zur Zeit noch die größte Schwierigkeit der ultrahisto-

logischen Technik, da die Präparate in ihrer Feinstruktur dabei nicht selten erheblich geschädigt werden.

Als Fixierungsmittel wird am häufigsten die bereits erwähnte Osmiumsäure herangezogen, die sich im Gewebe nach der bislang vorherrschenden, neuerdings aber mehrfach widersprochenen Auffassung besonders an die Lipide anlagert und so gewisse Strukturen im Präparat stark hervortreten läßt. Versuche zur Erreichung einer derartigen elektronenmikroskopischen Anfärbung sind inzwischen auch mit anderen Schwermetallverbindungen, wie z. B. Phosphorwolframsäure, Uranylacetat oder Eisenalaun, gemacht worden, ohne daß jedoch vollbefriedigende Resultate erzielt werden konnten.

Mit Hilfe der Ultrahistologie sind in den letzten Jahren die Vorgänge beim Infektionsablauf mit einer großen Zahl von Virusarten und an verschiedenartigen Wirtszellen studiert worden und haben aufschlußreiche Ergebnisse gebracht. Besonderes Interesse haben ähnliche Untersuchungen mit tumorbildenden Virusarten, wie z. B. dem Agens der Erythroblastose oder dem Bittner'schen Brustkrebsfaktor der Maus gefunden, über deren neueste Ergebnisse erst kürzlich B e r n h a r d berichtet hat. Ob die Elektronenmikroskopie mit diesen Befunden vielleicht einen richtungweisenden Beitrag zum Krebsproblem liefern kann, bleibt abzuwarten.